优雅蝈螽与暗褐蝈螽精子束的显微观察

王　莉，常岩林，冯晓丽，石福明
(河北大学生命科学学院，河北保定 071002)

摘要：本文应用微分干涉相衬法对优雅蝈螽 *Gampsocleis gratiosa* Brunner von Wattenwyl 和暗褐蝈螽 *G. sedakovii* (Fischer von Waldheim) 雄性精巢管基部、输精管、贮精囊和精包，及雌性受精囊中精子束的形态变化进行了观察，对探讨螽斯近缘种的生殖隔离机制和生殖生物学具有重要意义。结果表明：这两种蝈螽的精子束通过精包转移到雌性受精囊后，精子束的形态发生了显著变化。精巢管基部的精子为游离的单个精子；输精管、贮精囊和精包中精子成束排列形成较分散的精子束，精子束头部包裹有粘液帽；雌性受精囊中的精子束的精子呈羽状排列，精子的头部汇集在中央轴上。两种蝈螽精子束形态差异不显著。

关键词：优雅蝈螽；暗褐蝈螽；精子束；形态；显微结构；微分干涉相衬法
中图分类号：Q965　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2010)05-0596-05

Microscopic observation of spermatodesms of *Gampsocleis gratiosa* and *G. sedakovii* (Orthoptera: Tettigoniidae)

WANG Li, CHANG Yan-Lin, FENG Xiao-Li, SHI Fu-Ming (College of Life Sciences, Hebei University, Baoding, Hebei 071002, China)

Abstract: Spermatodesms of *Gampsocleis gratiosa* and *G. sedakovii* was studied by differential interference contrast (DIC) microscope, which is of significance to study the reproductive isolation mechanism and reproductive biology of the related species. The results indicate that the spermatodesms of *G. gratiosa* and *G. sedakovii*, which are transferred from the male to the female by spermatophores, are considerably different between the male and the female even in the same species. In testis the sperm is single. In vasa deferentia, seminal vesicles and spermatophores, sperms are grouped together in bundles to form spermatodesms. There is a mucous cap that encloses the head of the spermatodesms. In female spermatheca, the spermatodesms are feather-shaped with a median axis. The morphology of spermatodesms shows little difference between the two species.

Key words: *Gampsocleis gratiosa*; *Gampsocleis sedakovii*; spermatodesms; morphology; microstructure; differential interference contrast (DIC)

昆虫纲的一些类群精子发育的后期，精细胞转化成精子后，许多精子汇集在一起，形成精子束 (sperm bundles)。直翅目螽斯科昆虫，经过复杂的过程，形成较特殊的精子束 (spermatodesms) (Chapman, 1998)。螽斯精子以精子束的形式出现在雄性贮精囊中 (Viscuso *et al.*, 1998)，在交尾时精子束被包裹在精包 (spermatophore) 中，随精包从雄虫转移到雌虫体内 (Reinhold and Heller, 1993; Viscuso *et al.*, 2002)。螽斯的精包是交尾过程中雄虫送给雌虫的特殊婚礼食物 (nuptial gift) (Heller *et al.*, 2000; Vahed, 2006; Gao and Kang, 2006)，这种交尾方式在昆虫中较普遍 (Vahed, 1998; Sturm, 2003; Gwynne, 2008)。螽斯的精包主要由雄性附腺分泌物和精子束组成，包括 3 部分，最外层是粘质的精护 (spermatophylax)，一般富含蛋白质等营养成分；里面是较硬的精荚 (sperm ampulla)；最里面是位于精荚内的梨形精子囊 (sperm sac)，精子束被包在精子囊中 (Heller *et al.*, 1998; Viscuso *et al.*, 2002)。交尾结束后，储存精子束的精荚送入雌性生殖道，将精子束输入雌虫受精囊内；没有进入雌虫体内的精荚部分和精护粘在雌性产卵器基部，不久被雌虫取食 (Gwynne, 2001; 高勇和康乐, 2002)。

优雅蝈螽 *Gampsocleis gratiosa* Brunner von

基金项目：国家自然科学基金项目 (30670252)
作者简介：王莉，女，硕士研究生，研究方向昆虫生理，E-mail: yoyolily820@163.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: changylin@126.com
收稿日期 Received: 2009-11-25；接受日期 Accepted: 2010-03-30

Wattenwyl 和暗褐蝈螽 *G. sedakovii*（Fischer von Waldheim）是我国北方地区较常见的两种蝈螽，雄性能发出响亮的鸣声。这两种螽斯通常同域分布，成虫出现在夏初至秋末，野外容易采集，室内易于饲养，便于观察研究。关于蝈螽属雄性和雌性生殖道中精子束的变化与行为至今未见报道，本文应用微分干涉相衬技术，研究了优雅蝈螽和暗褐蝈螽雄虫交尾前和雌虫交尾后精子束的形态与变化，对探讨螽斯近缘种的生殖隔离机制和生殖生物学具有重要意义。

1　材料与方法

1.1　试虫及试虫解剖

本研究中所用优雅蝈螽和暗褐蝈螽，均采自河北省顺平县。野外采集的雌雄个体，用虫笼单头单笼饲养。数天后，对雄虫进行解剖。在较大的笼中放入雌雄个体各 1 头，确定其交尾后，将交尾后的雌虫单独饲养。

选发育良好的雄性成虫，沿背中线剪开，滴加 4℃昆虫生理盐水，分离生殖系统，取出精巢、输精管、贮精囊。雌雄交尾后，解剖刚交尾的雌性取出精包；解剖交尾数天后的雌虫，取出受精囊。

1.2　精子悬液的制备

将分离的雄性精巢、输精管、贮精囊、精包和雌性的受精囊分别置于盛有昆虫生理盐水的离心管中，研磨棒轻轻研磨，以免将精子束打散，双层镜头纸过滤后制成精子悬液。

1.3　显微观察和测量

吸取精子悬液滴于洁净的载玻片上，盖上盖玻片，Olympus BX51 诺马斯基微分干涉（DIC）显微镜观察并拍照。

根据标尺分别测量单个精子全长、精子细胞核长度和鞭毛长度；测量其顶体复合体夹角；统计输精管、贮精囊、精包及受精囊中精子束所含精子的数量，重复个体数至少为 7 个。

2　结果

优雅蝈螽和暗褐蝈螽雄性生殖系统的基本结构相似，成熟的雄性个体生殖系统主要包括 1 对精巢、1 对输精管、数个贮精囊和雄性附腺，雄性附腺充满腹腔的大部分空间，两个精巢分别位于附腺两侧，每个精巢的基部连有 1 条输精管，输精管末端膨大形成贮精囊，包围于附腺中。受精囊为雌性生殖系统中总输卵管侧壁上的囊状结构，是雌虫临时贮藏精子的器官。

优雅蝈螽和暗褐蝈螽的精巢管基部的精子均为分散的单个精子。精子由头部（head）、颈部（neck）和鞭毛（flagellum，F）3 部分构成，头部包括顶体复合体（acrosomal complex，Ac）和细胞核（nucleus，N），顶体复合体呈箭头状（图 1，6）。

优雅蝈螽精子全长为 220 ~ 240 μm，其中细胞核长度为 25 ~ 30 μm，鞭毛长度为 190 ~ 210 μm，顶体复合体夹角为 65° ~ 70°（图 1，表 1）。在输精管中，每两个精子头部粘合在一起，顶体复合体重叠，3 ~ 4 组这样成对的精子平行排列，即形成精子束。每个精子束外都有粘液帽（mucous cap，C）包裹着精子头部，鞭毛游离（图 2）。贮精囊和精包中的精子束形态与输精管中的精子束形态相似，精子头部平行排列，且由粘液帽包裹，但每个精子束中精子的数量增多了，通常有 10 ~ 14 个精子，并且排列更为规则紧密（图 3 ~ 4）。

暗褐蝈螽精子全长为 190 ~ 200 μm，其中精子细胞核长 23 ~ 27 μm，鞭毛长 160 ~ 180 μm，顶体复合体夹角为 70° ~ 80°（图 6，表 1）。雄性输精管和贮精囊、精包中精子的头部汇聚在一起，形成精子束，头部被粘液帽所覆盖。雄性输精管中每个精子束通常包含 6 个精子，一般不超过 8 个精子，排列较为松散（图 7）。雄性贮精囊和精包中每个精子束通常有 8 ~ 14 个精子，精子排列较规则且紧密（图 8 ~ 9）。

表 1　优雅蝈螽和暗褐蝈螽精子大小与外形的比较

Table 1　The comparison of sperms of *Gampsocleis gratiosa* and *G. sedakovii* in size and shape

物种 Species	精子全长（μm） Length of the sperm	细胞核长度（μm） Length of the nucleus	鞭毛长度（μm） Length of the flagellum	顶体复合体夹角 Angle of the acrosomal complex
优雅蝈螽 *G. gratiosa*	220 – 240	25 – 30	190 – 210	65° – 70°
暗褐蝈螽 *G. sedakovii*	190 – 200	23 – 27	160 – 180	70° – 80°

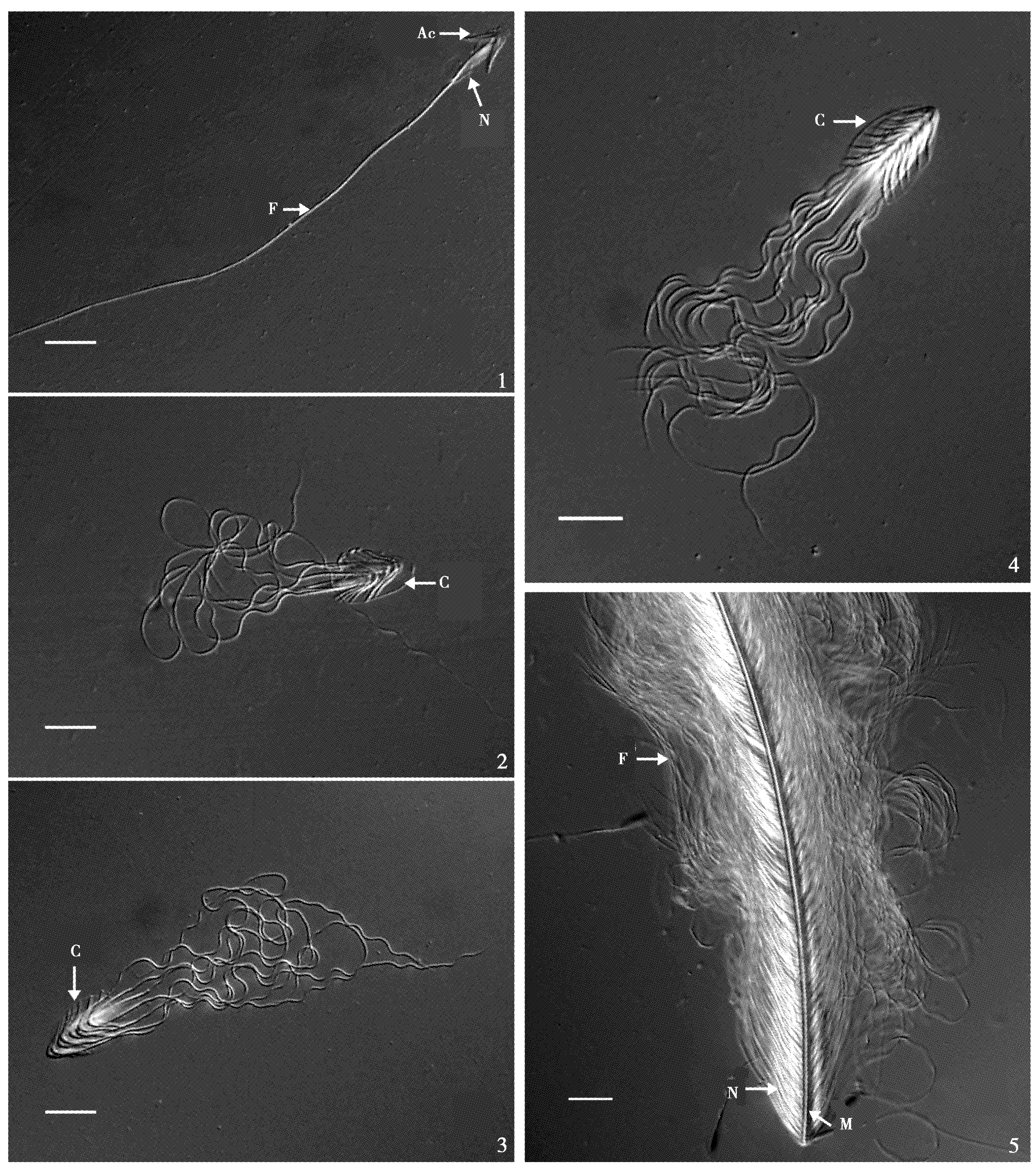


图 1～5 优雅蝈螽 *Gampsocleis gratiosa* 精子束

Figs. 1－5 The spermatodesms of *Gampsocleis gratiosa*

1：精巢中的精子 Sperm in the testis；2：输精管中的精子束 Spermatodesms in vasa deferentia；3：贮精囊中的精子束 Spermatodesms in the seminal vesicle；4：精包中的精子束 Spermatodesms in the spermatophore；5：受精囊中的精子束 Spermatodesms in the spermatheca. Ac：顶体复合体 Acrosomal complex；M：粘液帽 Mucous cap；F：鞭毛 Flagellum；N：细胞核 Nucleus；M：中央轴 Median axis. 标尺 Bars = 20 μm.

优雅蝈螽和暗褐蝈螽交尾后的雌性受精囊中精子束中精子排列均呈羽毛状，有紧密的中央轴(median axis，M)，精子顶体复合体汇集在中央轴上，精子细胞核和鞭毛对称排列在中央轴两侧(图 5，10)。

3 讨论

对优雅蝈螽和暗褐蝈螽交尾前后雄性精巢管基部、输精管、贮精囊和精包，及雌性受精囊中精子及精子束形态的观察，发现它们具有一些共同特征：精子头部膨大，尾部细长，顶体复合体呈箭头状，细胞核较长，前端为纺锤形；精巢管基部的精子以单个游离形式存在，输精管、贮精囊和精包中精子平行排列，形成松散的精子束，其头部包裹有粘液帽，精子鞭毛游离；雌性受精囊中精子束呈羽毛状，精子顶体复合体规则排列，并粘着形成中央

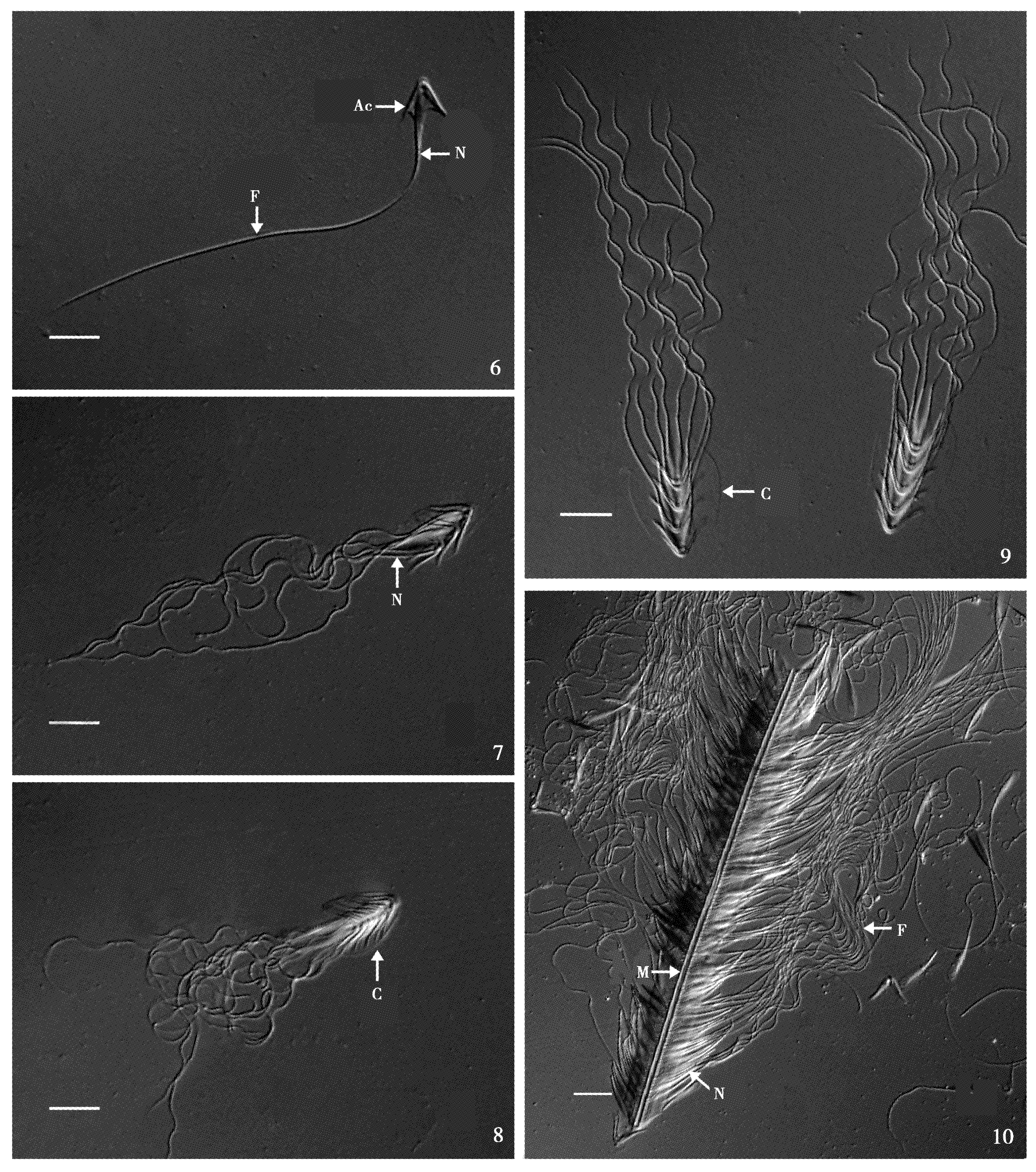


图 6 ~ 10　暗褐蝈螽 *Gampsocleis sedakovii* 精子束

Figs. 6 – 10　The spermatodesms of *Gampsocleis sedakovii*

6：精巢中的精子 Sperm in the testis；7：输精管中的精子束 Spermatodesms in vasa deferentia；8：贮精囊中的精子束 Spermatodesms in the seminal vesicle；9：精包中的精子束 Spermatodesms in the spermatophore；10：受精囊中的精子束 Spermatodesms in the spermatheca. Ac：顶体复合体 Acrosomal complex；M：粘液帽 Mucous cap；F：鞭毛 Flagellum；N：细胞核 Nucleus；M：中央轴 Median axis. 标尺 Bars = 20 μm.

轴，精子细胞核和鞭毛对称排列在中央轴两侧。但是，优雅蝈螽和暗褐蝈螽精子外形差异较显著，优雅蝈螽精子的鞭毛长度和精子全长均大于暗褐蝈螽，两种蝈螽精子顶体复合体的夹角略有差异。

Viscuso 等（1998）研究了螽斯亚科（Tettigoniinae）和距螽亚科（Ephippigcrinae）9 属 12 种精子束的形态和结构，发现雄性生殖道中每个精子束包含的精子数目因种而异，在同一个体中也有差别，但通常有一个范围，最大值在不同物种中有差异。距螽亚科雄性生殖道中每个精子束最多含有 70 个左右精子，螽斯亚科精子束所含精子数量较少，一般不超过 20 个精子。本文所研究的优雅蝈螽和暗褐蝈螽每个精子束包含的精子数量，在输精管中最多为 8 个，贮精囊中最多为 10 个，精包中

最多为 14 个。

雌性昆虫的受精囊中储藏的精子和雄虫体内的精子从生理上讲是不同的。在精子从雄虫转移到雌虫体内的过程中，或当精子刚转移到雌虫受精囊后，精子的活动变得更为剧烈，具备了与卵结合的能力，这个过程被称为精子获能(杨月红和奚耕思，1999；Gillott，2003)。本文研究的两种螽蟖，其精子在输精管、贮精囊和精包中均呈平行排列，精子头部被粘液帽包裹，捆绑形成精子束，只有鞭毛可摆动，精子束不能移动。交尾完成后，精子束与雄性附腺分泌物一起输送到雌性受精囊内，并在雄性附腺分泌物的作用下，粘液帽解体，精子重新排列，形成羽毛状精子束，羽毛状精子束中包含的精子数量也大大增加了，我们推测这种由粘液帽包裹的精子束解体后重排形成羽毛状精子束的过程可能和螽斯精子获能有关。Viscuso 等(2001)从螽斯 *Rhacocleis annulata* 的雄性附腺分泌物中分离出 1 种分子量为 29 kDa 的蛋白，把这种蛋白加入贮精囊中带有粘液帽的精子束中离体培养，证明了这种蛋白具有破坏粘液帽的功能，使精子游离出来，恢复运动的能力，这说明雄性附腺分泌物在精子获能中起重要作用。但是，在蝗虫中，雌性受精囊中的精子束与雄性输精管中的精子束在形态基本相似(Viscuso *et al.*，1998)。我们推测这种精子束中的羽毛状排列方式和精子束在雌雄体内的变化是螽斯科精子特有的一种行为。

Viscuso 等(2001)研究发现螽斯精包中有些精子束没有粘液帽或粘液帽不清晰，可能是雄性附腺的分泌物将粘液帽溶解了。本研究中的精包，是在雌雄刚刚完成交尾，精包刚传给雌性时采集的，精包中的精子束形态结构与取自雄性输精管和贮精囊中的精子束形态相似。精子束形态结构的进一步变化，包括粘液帽的降解、羽状精子束的形成过程等，似乎是在精包中完成的(Viscuso *et al.*，2002)，但具体变化机制有待进一步研究。

参考文献(References)

Chapman RF, 1998. The Insects: Structure and Function. Cambridge University Press, London. 268-293.

Gao Y, Kang L, 2002. Parental investment and sex role reversal: Nuptial gift and its effects on sexual selection in katydids. *Acta Entomol. Sin.*, 45(3): 397-400. [高勇，康乐，2002. 父方投资与性角色逆转现象：螽斯类昆虫的婚礼食物及对性选择方向的影响. 昆虫学报，45(3): 397-400]

Gao Y, Kang L, 2006. Effects of mating status on copulation investment by male bushcricket *Gampsocleis gratiosa* (Tettigoniidae, Orthoptera). *Science in China Ser. C: Life Sciences*, 49(4): 349-353.

Gillott C, 2003. Male accessory gland secretions: Modulators of female reproductive physiology and behavior. *Annu. Rev. Entomol.*, 48: 163-184.

Gwynne DT, 2001. Katydids and bushcrickets: Reproductive behavior and evolution of the Tettigoniidae. Cornell University Press, Ithaca and London. 122-159.

Gwynne DT, 2008. Sexual conflict over nuptial gift in insects. *Annu. Rev. Entomol.*, 53: 83-101.

Heller KG, Faltin S, Fleischmann P, Helversen OV, 1998. The chemical composition of the spermatophore in some species of phaneropterid bushcrickets (Orthoptera: Tettigonioidae). *J. Insect Physiol.*, 44(10): 1 001-1 008.

Heller KG, Fleischmann P, Lutz-Roder A, 2000. Caroteniods in the spermatophores of bushcrickets (Orthoptera: Ephippigerinae). *Proc. R. Soc. Lond. B*, 267(1 455): 1 905-1 908.

Reinhold K, Heller KG, 1993. The ultimate function of nuptial feeding in the bushcricket *Poecilimon veluchianus* (Orthoptera: Tettigoniidae: Phaneropterinae). *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 32(1): 55-60.

Sturm R, 2003. The spermatophore of the black field cricket *Teleogryllus commodus* (Insecta: Orthoptera: Gryllidae): Size, structure and formation. *Entomologische Abhandlungen*, 61(2): 227-232.

Vahed K, 1998. The function of nuptial feeding in insects: a review of empirical studies. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.*, 73(1): 43-78.

Vahed K, 2006. Larger ejaculate volumes are associated with a lower degree of polyandry across bushcricket taxa. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 273(1 599): 2 387-2 394.

Viscuso R, Brundo MV, Sottile L, 2002. Mode of transfer of spermatozoa in Orthoptera Tettigoniidae. *Tissue Cell*, 34(5): 337-348.

Viscuso R, Narcisi L, Sottile L, Barone N, 1998. Structure of spermatodesms of Orthoptera Tettigonioidea. *Tissue Cell*, 30(4): 453-363.

Viscuso R, Narcisi L, Sottile L, Brundo MV, 2001. Role of male accessory glands in spermatodesm reorganization in Orthoptera Tettigonioidae. *Tissue Cell*, 33(1): 33-39.

Yang YH, Xi GS, 1999. Studies of capacitation and acrosome reaction in insect sperm. *Journal of Xi' an United University*, 2(2): 25-28. [杨月红，奚耕思，1999. 昆虫精子获能与顶体反应的研究. 西安联合大学学报，2(2): 25-28]

(责任编辑：袁德成)